Aus dem Physiologischen Institut der Universität Würzburg
(Vorstand: Professor Dr. E. Wöhlisch)

Zur Frage der Ultrafiltrierbarkeit und der Reaktionskinetik des Thrombins.

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

der

BAYER. JULIUS-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT WÜRZBURG

zur

ERLANGUNG DER MEDIZINISCHEN DOKTORWÜRDE

vorgelegt von

Otto Kiderlen

Assistenzarzt aus Traunstein.

1937

Druck von Gebrüder Memminger Würzburg

Gedruckt mit Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg.

Referent:

Professor Dr. E. Wöhlisch.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Geschwistern!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549802_0231

Zur Frage der Ultrafiltrierbarkeit und der Reaktionskinetik des Thrombins.

Das Problem der Blutgerinnung ist von ebenso großem theoretischen wie praktischen Interesse. Erhofft sich einerseits die Wissenschaft aus der endgültigen Klärung dieses alle Zweige der Medizin berührenden Arbeitsgebietes die Krönung jahrzehntelanger Arbeit, so erwartet anderseits die praktische Medizin die Früchte der Forschung zur Bereicherung ihres Heilschatzes.

Trotz der zahlreichen Einzelerfolge, welche die Wissenschaft auch auf diesem Gebiete errungen hat, sind wir heute noch nicht in der Lage, ein abschließendes Bild von dem Wesen der Blutgerinnung zu entwerfen, und in vielen Fragen steht Auffassung gegen Auffassung. Diese Tatsache ist auf die besondere Kompliziertheit der zu erforschenden Reaktionsmechanismen und auf die vielfach mangelnde Definiertheit der meisten bisher untersuchten Systeme zurückzuführen.

Im Mittelpunkt der Wissenschaft von der Blutgerinnung stehen naturgemäß das Thrombin und das Fibrinogen sowie ihr gegenseitiges Verhältnis zueinander.

In der vorliegenden Arbeit werden zwei diesbezügliche Berichte untersucht. Der 1. Abschnitt befaßt sich mit der von Rettger[1]) und Mellanby[2]) mitgeteilten Ultrafiltrierbarkeit des Thrombins; der 2. Abschnitt ist den einander widersprechenden Angaben von Foà[3]) und Yamada[4]) einerseits und Mellanby[5]) anderseits über die Reaktionskinetik der Fibrinogengerinnung durch Thrombin gewidmet.

I. Über die Frage der Ultrafiltrierbarkeit des Thrombins.

Diesem Teil der Arbeit liegen folgende Mitteilungen zu Grunde: Rettger[1]) behauptet, daß das Schmidt'sche[6]) Thrombin sehr schwach durch Kollodiummembranen diffundiert: „Bei Dialyse gegen eine kleine Menge Wasser erscheinen nach einigen Stunden Spuren von Thrombin in der Außenflüssigkeit". Rettger gibt nicht an, ob er eiweißdichte Filter verwendet hat.

Mellanby[2]) sagt: „Thrombin dialysiert langsam durch eine Kollodiummembran. Diese Tatsache kann gezeigt werden, indem bei einer Temperatur von 38° eine mit Thrombinlösung gefüllte Kollodiumhülse in ein Gefäß mit Oxalatplasma gehängt wird. Nach 2 Stunden wird an der das Plasma berührenden Außen-

fläche der Hülse eine deutliche Gerinnung wahrgenommen. Der Fibrinschleier wächst mit der Dauer der Dialyse. Als Test für Thrombin wird 0,2% Kaliumoxalat enthaltendes Oxalatplasma verwendet."

Auch Mellanby macht nur unzureichende Angaben über die Versuchsbedingungen; so gibt er insbesondere keine Mengenverhältnisse an, und es ist aus seiner Veröffentlichung nicht zu ersehen, ob die verwendeten Kollodiummembranen eiweißdicht sind oder nicht.

In der gleichen Arbeit teilt Mellanby mit: „Thrombin ist ein im Wasser lösliches Protein". Aus dieser Angabe möchte man schließen, daß Mellanby's Kollodiummembranen eiweißdurchlässig gewesen sind.

In den nachstehend beschriebenen Versuchen wird mittels Ultrafiltration untersucht, ob Thrombin eiweißdichte Kollodiummembranen zu durchdringen vermag.

1. Herstellung der Thrombin- und Fibrinogenlösungen.

Die zu untersuchenden Thrombinlösungen wurden zum Teil nach Schmidt[6]) und zum Teil nach Mellanby[5]) dargestellt.

Besondere Aufmerksamkeit wurde der Beschaffenheit der als Test dienenden Fibrinogenlösung zugewendet. Sowohl verdünnte, wie unverdünnte Oxalatplasmalösungen sind zu den Versuchen ungeeignet, da sie schon durch einen kleinen Calciumüberschuß zur Gerinnung gebracht werden.

Die Vermeidung eines Calciumüberschusses durch entsprechende Oxalatzugaben ist nicht angängig, da bekanntlich schon kleine Oxalatmengen eine erhebliche Verzögerung der Gerinnung bedingen.

Als Test für Thrombin kommen demnach nur möglichst reine Fibrinogenlösungen in Frage. Von den bekannten Fibrinogenlösungen entspricht das nach Bordet[7]) durch Behandeln mit Calciumphosphat von Prothrombin befreite Fibrinogen am besten den gestellten Anforderungen. Ich habe das Bordet'sche Verfahren zur Darstellung von Fibrinogenlösungen aus Schweineblut etwas modifiziert.

Die zu den folgenden Versuchen verwandten Fibrinogenlösungen sind nach diesem auf Grund praktischer Erfahrung gewonnenen Verfahren hergestellt worden.

Im Einzelnen erfolgt die Fibrinogendarstellung wie folgt: Das möglichst frische Schweineoxalatblut (2‰ Natriumoxalat enthaltend) wird eine Stunde zentrifugiert und anschließend durch einen Trichter in eine Flasche gegeben,

in die vorher $^1/_{10}$ des Plasmavolumens eines Gemisches aus zwei Gewichtsteilen Calciumphosphat und drei Gewichtsteilen Wasser gegeben wurde. Das Ganze wird bei Zimmertemperatur ½ Stunde geschüttelt und dann 20 Minuten lang zentrifugiert. Um ein gutes Abgießen des Phosphatplasmas zu ermöglichen, wird dies sofort nach dem Zentrifugieren durchgeführt. Anschließend wird aus dem Phosphatplasma das Fibrinogen durch Zufügen der gleichen Menge $2^0/_{00}$ Natriumoxalat enthaltender gesättigter Kochsalzlösung gefällt. Nach etwa ½ Minute beginnt die Ausscheidung des Fibrinogens. Durch langsames Rühren mit einem dicken Glasstab und gleichzeitiges Drehen desselben gelingt es nach rund 1 Minute fast das ganze Fibrinogen auf den Glasstab aufzuwickeln. Das am Glasstab sitzende Fibrinogen wird zur Waschung mit obiger gesättigter Kochsalzlösung übergossen, dann mit Hilfe eines zweiten Glasstabes in ein Becherglas abgestreift und noch einmal mit gesättigter Kochsalzlösung gewaschen. Hierauf wird das Fibrinogen noch zweimal mit halbgesättigter Kochsalzlösung gewaschen, gut abgetropft und in ein Gemisch aus 1 Teil 0,9% Kochsalzlösung und 3 Teilen Wasser gebracht, und zwar nimmt man das gleiche Volumen, wie das verarbeitete Phosphatplasma. In ¼ bis ½ Stunde hat sich das Fibrinogen ganz gelöst. Durch öfteres Umschwenken kann die Auflösung beschleunigt werden. Nun wird das Fibrinogen wie oben ein zweites Mal gefällt und gewaschen und dann wieder in ein Gemisch aus 1 Teil physiologischer Kochsalzlösung und 3 Teilen Wasser gebracht Das Volumen dieser Kochsalzlösung beträgt diesmal aber nur $^1/_6$ des Phosphatplasmavolumens. Die Auflösung dauert nun bedeutend länger. Die so erhaltene wasserhelle konzentrierte Fibrinogenlösung wird über Nacht gegen 0,9%ige Kochsalzlösung dialysiert. Bei dreimaligem Wechseln der Dialysierflüssigkeit hat die Fibrinogenlösung am nächsten Morgen rund 0,9% Kochsalz und bis zu 2% Fibrinogen. Diese hochkonzentrierte Stammlösung ist tagelang haltbar und kann unverdünnt oder verdünnt zu Gerinnungsversuchen verwendet werden.

Die nach diesem Verfahren hergestellten Schweinefibrinogenlösungen sind als calciumfest zu bezeichnen, d. h. stundenlanges Einwirken von 1 ccm 0,05 bis 1%iger Calciumchloridlösung bringt ½ ccm dieser Fibrinogenlösung nicht zur Gerinnung. Eisgekühlt bleibt die Fibrinogenlösung tage- bis wochenlang wasserhell. Nach Tagen etwa auftretende Flocken werden durch Filtration entfernt; das Filtrat ist nach wie vor für Gerinnungsversuche geeignet. Die Fibrinogenkonzentration der erhaltenen Lösung wird nach dem Dialysieren durch Mikrokjeldahl ermittelt. Die Chloridbestimmung erfolgt nach dem Prinzip von Ruszniak[8]). Mit Hilfe der Mischmethode gelingt es leicht aus der Stammlösung Fibrinogenlösungen gewünschter Konzentration bei konstantem Kochsalzgehalt herzustellen.

2. Durchführung der Ultrafiltrationen.

Die Versuche wurden bei Zimmertemperatur mit dem Ultrafiltergerät der Membranfiltergesellschaft Göttingen ausgeführt.

Als Ultrafilter dienten selbst verfertigte eiweißdichte Kollodiumfilter mit unterlegtem Hartfilter (Schleicher & Schüll). Die Eiweißdichtigkeit des Ultrafilters wurde bei jedem Versuch durch eine Prüfung des Filtrates mit Sulfosalicylsäure nachuntersucht.

a) Versuche mit Schmidt'schem Thrombin.

1. Versuch (30. IX. 35): 0,6 g getrocknetes Schmidt'sches Thrombin wurden in 30 ccm 0,9% NaCl-Lösung suspendiert und bei Zimmertemperatur

1 Stunde lang geschüttelt. 1 ccm dieser Thrombinaufschwemmung koagulierte ½ ccm 0,9% NaCl-haltiger Fibrinogenlösung bei 37° nach 40 Sekunden. Die Thrombinaufschwemmung wurde ultrafiltriert und das Filtrat in Fraktionen von je 3 ccm aufgefangen. 1 ccm jeder Fraktion wurde mit ½ ccm Test bei 37° geprüft. Keines der Ultrafiltrate rief eine Gerinnung hervor.

2. Versuch (30. IX. 35): 0,6 g festes Schmidt'sches Thrombin wurden in 30 ccm destilliertem Wasser suspendiert; das Gemisch wurde bei Zimmertemperatur 1 Stunde geschüttelt und wie bei Versuch 1 ultrafiltriert und geprüft: Keines der Ultrafiltrate brachte den Test zur Gerinnung.

Es besteht demnach kein Anhalt für die Ultrafiltrierbarkeit des Schmidt'schen Thrombins.

b) Versuche mit Mellanby-Thrombin.

3. Versuch (2. X. 35): 15 ccm Mellanby-Thrombinlösung wurden bei Zimmertemperatur ultrafiltriert. Das Filtrat wurde in Fraktionen von je 3 ccm getrennt aufgefangen. Je 1 ccm jeder Fraktion wurde mit ½ ccm Fibrinogenlösung bei 37° untersucht: es trat keine Gerinnung ein.

Dieser Versuch wurde wiederholte Male mit stets dem gleichen Ergebnis durchgeführt; in keinem Falle konnte Thrombin im Ultrafiltrat nachgewiesen werden.

Aus den übereinstimmenden Ergebnissen aller meiner Versuche an Schmidt'schem Thrombin und Mellanby Thrombin geht hervor, daß das Gerinnungsferment eiweißdichte Ultrafilter nicht zu durchdringen vermag. In nicht nach Bordet behandelten, d. h. nicht calciumfesten Fibrinogenlösungen wird durch das Ultrafiltrat der Thrombinlösungen häufig eine Gerinnung hervorgerufen. Diese ist auf den Calciumgehalt der Ultrafiltrate zurückzuführen, der eine wichtige Fehlerquelle bei derartigen Versuchen bildet.

II. Über die Reaktionskinetik der Thrombinwirkung.

Foà [3]) und Yamada [4]) fanden, daß die Reaktionsgeschwindigkeit der Fibrinogengerinnung durch Thrombin mit der Fibrinogenkonzentration zunimmt.

Mellanby [5]) beobachtete dagegen bei steigender Fibrinogenkonzentration eine Abnahme der Reaktionsgeschwindigkeit.

Der unaufgeklärte Widerspruch dieser Angaben legt die Frage nahe, ob nicht je nach Wahl der Versuchsbedingungen entweder der von Foà und Yamada oder der von Mellanby angegebene Einfluß der Substratkonzentration vorhanden ist. Die unzureichende Definiertheit der verarbeiteten Systeme erschwert die Klärung. Es ist von vornherein sicher, daß Versuchstemperatur, Salzgehalt, Art und Herstellungsweise des Substrates das Versuchsergebnis wesentlich beeinflussen. Bei Annahme der Fer-

mentnatur des Thrombins liegt aber die Vermutung nahe, daß sich die Widersprüche durch Nichtberücksichtigung des Einflusses der Konzentration der untersuchten Fibrinogenlösungen erklären. Hat man doch auch bei einigen anderen Fermenten beobachtet, daß die Reaktionsgeschwindigkeit eines Fermentsubstratgemisches bei steigender Substratmenge ein Maximum erreicht und dann wieder abfällt. So steigt z. B. die Geschwindigkeit der Rohrzuckerspaltung durch Hefesaccharase bis zu einer Substratkonzentration von maximal 5%, um bei höheren Werten eine der Konzentration proportionale Abnahme zu erfahren (Nelson und Schubert[9]). Ähnliche Verhältnisse zeigen die Urease (Kato[10])), Leberlipase (Bamann[11])) und die Speichelamylase (Evans[12])).

Wenn bei dem System Thrombin-Fibrinogen dieselbe Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Substratkonzentration besteht, muß bei einem bestimmten Werte der Fibrinogenkonzentration ein Maximum der Reaktionsgeschwindigkeit eintreten. Sowohl oberhalb, wie unterhalb dieser Fibrinogenkonzentration muß dann die Reaktionsgeschwindigkeit kleiner werden.

Durch systematische Variationen der chemisch-quantitativ definierten Versuchsbedingungen läßt sich tatsächlich nachweisen, daß die für die oben angeführten Fermente kennzeichnende Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Substratkonzentration auch bei der Fibrinogengerinnung vorhanden ist.

Zur Untersuchung der Reaktionskinetik der Fibrinogengerinnung wurden 3 Versuchsreihen durchgeführt.

Als Substrat verwendete ich calciumfestes Schweinefibrinogen mit 1% Eiweiß und 0,9% NaCl. Zur Untersuchung des Einflusses der Substratkonzentration auf die Gerinnungszeit wurde diese Lösung durch Zusatz von physiologischer NaCl-Lösung auf verschiedenen Eiweißgehalt verdünnt. Zur Herbeiführung der Gerinnung diente eine nach Mellanby[5]) dargestellte Thrombinlösung. Auch diese Lösung enthielt 0,9% Kochsalz.

Jeweils 0,5 ccm Fibrinogenlösung wurden mit 1 ccm der Thrombinlösung versetzt, sodaß das Gesamtvolumen der Gerinnungssysteme stets 1,5 ccm betrug. Alle Versuche wurden im Wasserthermostaten bei 37° durchgeführt. Vor dem Zusammenbringen der Reagentien wurden diese im Wasserthermostaten auf 37° erwärmt.

Als Gerinnungszeit gilt die nach dem Zusammenfügen der Reagentien bis zur Gallertbildung verstreichende Zeit, gemessen in Sekunden.

Die Fibrinogenkonzentration und die Thrombinkonzentration sind stets auf das fertige aus Thrombin + Fibrinogen bestehende Gerinnungssystem bezogen.

In meinen Versuchen wurde die Gerinnungszeit (GZ) als Funktion der Fibrinogenkonzentration bei konstanter Thrombinkonzentration untersucht, wobei die Fibrinogenkonzentration (C_{Fg}) von sehr kleinen bis hinauf zu möglichst großen Werten variiert wurde. Innerhalb einer Versuchsreihe wurden mehrere Versuche angestellt, die sich voneinander durch die Thrombinkonzentration (C_{Th}) unterscheiden; die höchste in der Versuchsreihe angewandte Konzentration wurde dabei willkürlich = 1,0 gesetzt.

Die Versuchsreihen (Tabellen I, II und III) unterscheiden sich dadurch, daß zu jeder Versuchsreihe ein anderes Schweinefibrinogen verwendet wurde. Jede Versuchsreihe wurde doppelt durchgeführt.

Die einen Wendepunkt darstellenden Gerinnungszeiten der einzelnen Versuche sind durch fetten Druck hervorgehoben.

Tabelle I.

Versuchsreihe vom 15. X. 1935.

C_{Fg} (Prozent)	Gerinnungszeit in Sekunden $C_{Th} = 1{,}0$	$C_{Th} = 0{,}5$	$C_{Th} = 0{,}1$	$C_{Th} = 0{,}05$
0,026	70	55	67	103
0,034	53	36	53	78
0,052	28	26	44	**55**
0,069	21	21	42	64
0,103	18	16,5	42	75

Tabelle II.

Versuchsreihe vom 17. X. 1935.

C_{Fg} (Prozent)	Gerinnungszeit in Sekunden $C_{Th} = 1{,}0$	$C_{Th} = 0{,}5$	$C_{Th} = 0{,}1$	$C_{Th} = 0{,}05$
0,03	59	54	62	110
0,04	48	43	51	83
0,067	27	25	**44**	**75**
0,127	16,5	16,5	54	90

Tabelle III.

Versuchsreihe vom 20. X. 1935.

C_{Fg} (Prozent)	Gerinnungszeit in Sekunden $C_{Th} = 0{,}5$	$C_{Th} = 0{,}1$	$C_{Th} = 0{,}05$
0,013	64	62	67
0,020	36	41,5	57,5
0,040	32	37,5	50
0,043	21,5	35,5	48,5
0,050	20	33	46,5
0,057	19	30	43,5
0,067	18	27,5	40
0,077	16,5	27	38
0,090	**14**	**25**	**35**
0,113	15	25,5	35
0,150	15	26,5	41
0,227	15	28	50
0,453	15	46	69

Alle 3 Versuchsreihen bestätigen die eingangs der Arbeit geäußerte Erwartung, daß je nach Versuchsanordnung die Angaben von Foà und Yamada einerseits und die von Mellanby anderseits den Tatsachen entsprechen.

Aus den Tabellen I bis III geht eindeutig hervor, daß jede der beiden Angaben für einen bestimmten Bereich der Fibrinogenkonzentration gültig ist. Bei verdünnten Fibrinogenlösungen nimmt bis zu einem Optimalwerte der Fibrinogenkonzentration die Gerinnungszeit mit der Erhöhung der Konzentration ab. Demnach dürften Foà und Yamada in dem Bereiche unterhalb der optimalen Konzentration gearbeitet haben.

Die von Mellanby beobachtete starke Zunahme der Gerinnungszeit mit steigender Fibrinogenkonzentration bei Konstanz der Thrombinkonzentration findet für Fibrinogenlösungen oberhalb der optimalen Fibrinogenkonzentration ihre Bestätigung.

Der hemmende Einfluß der Substratkonzentration scheint nach meinen Versuchen für kleine Thrombinkonzentrationen bei niedrigeren Fibrinogenkonzentrationen als für größere Thrombinkonzentrationen zu beginnen. Diese Tatsache weist auf die Bedeutung des Verhältnisses $\frac{C_{Fg}}{C_{Th}}$ für die Lage der optimalen Fibrinogenkonzentration hin.

Zusammenfassung.

Im I. Teil dieser Arbeit wird die von Rettger und Mellanby mitgeteilte Ultrafiltrierbarkeit des Thrombins nachuntersucht.

Zahlreiche Ultrafiltrationen von Schmidt'schen und Mellanby-Thrombinlösungen durch eiweißdichte Kollodiummembranen ergeben bei Verwendung von calciumfesten Fibrinogenlösungen als Test keinen Anhalt für die Ultrafiltrierbarkeit des Thrombins.

Die von Rettger und Mellanby erzielten Effekte dürften durch Verwendung eiweißdurchlässiger Membranen oder nicht calciumfester Plasmalösungen als Test oder durch beides zustande gekommen sein.

Den Ausgang des II. Teiles der vorliegenden Arbeit bildet eine auf dem Gebiet der Reaktionskinetik der Thrombinwirkung bestehende Unklarheit:

Foà und Yamada geben an, daß die Reaktionsgeschwindigkeit der Fibrinogengerinnung bei steigender Substratkonzentration zunimmt.

Im Gegensatz hierzu steht die Mitteilung von Mellanby, nach der die Reaktionsgeschwindigkeit der Fibrinogengerinnung mit steigender Konzentration der Fibrinogenlösung abnimmt.

Es wird festgestellt, daß steigende Fibrinogenkonzentrationen die Reaktionsgeschwindigkeit unterhalb eines optimalen Wertes der Fibrinogenkonzentration erhöhen, oberhalb derselben dagegen hemmen.

Folglich gilt die Angabe von Foà und Yamada für Fibrinogenkonzentrationen unterhalb, die von Mellanby für solche oberhalb der optimalen Fibrinogenkonzentration.

Zum Schlusse meiner Arbeit möchte ich nicht versäumen, Herrn Professor Dr. E. Wöhlisch für die gütige Überlassung des Themas und die freundliche Anteilnahme bei Durchführung der Versuche meinen besten Dank auszusprechen. — Ebenso danke ich der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Unterstützung der Arbeit.

Ehrenwörtliche Versicherung.

Ich versichere hiermit ehrenwörtlich, daß ich mich bei der Abfassung der vorliegenden Arbeit keiner unerlaubten Hilfe bedient habe.

Otto Kiderlen.

Literaturnachweis.

1. Rettger, L. J.: Amer. J. Physiol. **24,** 406 (1909).
2. Mellanby, I.: Proc. Roy. Soc. London, Ser. B. **113,** 93, (1933).
3. Foà, Ch.: Arch. di Fisiol. **10,** 479 (1912); Zbl. Physiol. **27,** 603, (1913).
4. Yamada, M.: Biochem. Z. **87,** 273 (1918).
5. Mellanby, I.: J. of Physiol. **38,** 28 (1909).
6. Schmidt, A.: Zur Blutlehre, Leipzig, 1892.
7. Bordet, J.: C. r. Soc. Biol. **83,** 576 (1920).
8. Ruszniak: Siehe Pincussen, Mikromethodik 1923.
9. Nelson, I. M. and M. P. Schubert: J. amer. chem. Soc. **50,** 2188 (1928).
10. Kato, N.: Biochem. Z. **136,** 498 (1923).
11. Bamann, E.: Ber. dtsch. Chem. Ges. **62,** 1538 (1929).
12. Evans, Lovat: J. of Physiol. **44,** 191 (1912).

Lebenslauf.

Am 30. Juni 1901 wurde ich als Sohn des Kaufmanns Eduard Kiderlen und seiner Ehefrau Mathilde, geb. Brendel in Traunstein, geboren. Die Volksschule besuchte ich in meiner Geburtsstadt von 1907 bis 1911, dann trat ich in die dortige Realschule ein, siedelte 1918 an die Oberrealschule Regensburg über und legte dort Ostern 1921 die Reifeprüfung ab. Von 1921 bis 1925 studierte ich an der Universität München Chemie und unterzog mich Weihnachten 1925 mit Erfolg der chemischen Verbandsprüfung am Laboratorium für Angewandte Chemie in München. Aus finanziellen Gründen konnte ich das Studium nicht fortsetzen und arbeitete in verschiedenen Betrieben bis 1928 als Werkstudent. Von Wintersemester 1928 bis 1929 studierte ich in Erlangen und anschließend von Wintersemester 1929 bis 1934 in Würzburg Medizin. Das medizinische Physikum legte ich im Sommer 1930, das Staatsexamen im W. S. 1934/35 in Würzburg ab. Die ärztliche Approbation erhielt ich im März 1936, nachdem ich meine Medizinalpraktikantenzeit am Physiologischen Institut der Universität Würzburg und an der Medizinischen Universitäts-Poliklinik Würzburg verbracht hatte. Von März 1936 bis 1. April 1937 war ich als Volontärassistent und seither als Assistenzarzt an der Würzburger Medizinischen Universitäts-Poliklinik tätig.